



(12) **EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT**

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des
Hinweises auf die Patenterteilung:
17.03.2004 Patentblatt 2004/12

(51) Int Cl.7: **C07D 417/06, C07D 493/04,
C07D 497/18, A61K 31/425,
A01N 43/78, A61P 35/00**

(21) Anmeldenummer: **01127352.1**

(22) Anmeldetag: **18.11.1996**

(54) **Epothilon-Derivate, ihre Herstellung und Verwendung**

Epothilone derivatives, their preparation and utilization

Derivés d'épothilone, leur procédé de production et utilisation

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC
NL PT SE**

(30) Priorität: **17.11.1995 DE 19542986**
25.09.1996 DE 19639456

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
13.03.2002 Patentblatt 2002/11

(62) Dokumentnummer(n) der früheren Anmeldung(en)
nach Art. 76 EPÜ:
96939097.0 / 0 873 341

(73) Patentinhaber: **Gesellschaft für
Biotechnologische Forschung mbH (GBF)**
38124 Braunschweig (DE)

(72) Erfinder:
• **Höfle, Gerhard, Prof. Dr.**
38124 Braunschweig (DE)
• **Kiffe, Michael, Dr.**
38124 Braunschweig (DE)

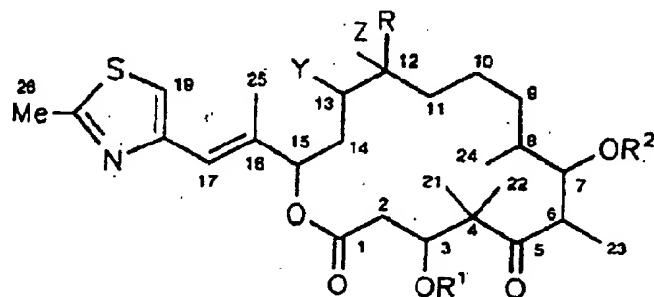
(74) Vertreter: **Boeters, Hans Dietrich, Dr. et al**
Patentanwälte Boeters & Bauer,
Bereiteranger 15
81541 München (DE)

(56) Entgegenhaltungen:
WO-A-93/10121

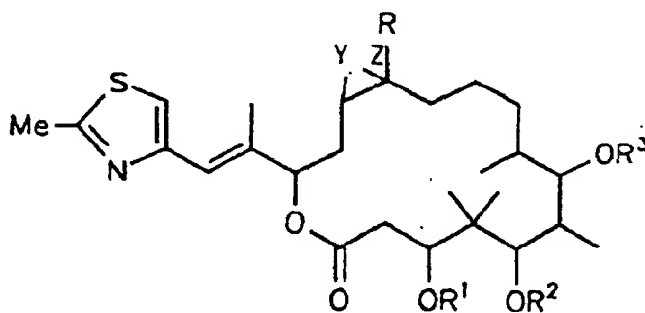
Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

Beschreibung

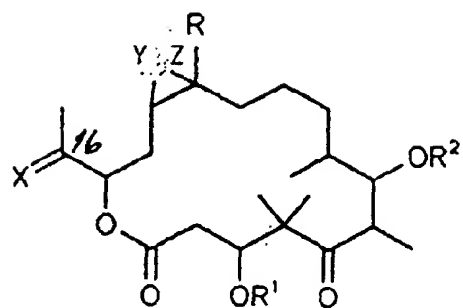
[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft allgemein Epothilonderivate und deren Verwendung zur Herstellung von Arzneimitteln. Insbesondere betrifft die vorliegende Erfindung die Herstellung der Epothilonderivate der nachfolgend dargestellten allgemeinen Formeln 1, 2, 4, 5, 7 sowie deren Verwendung zur Herstellung von therapeutischen Mitteln und Mitteln für den Pflanzenschutz.



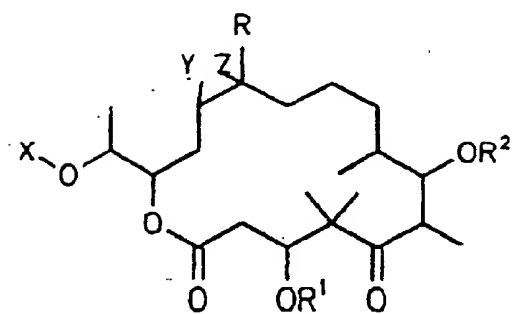
1



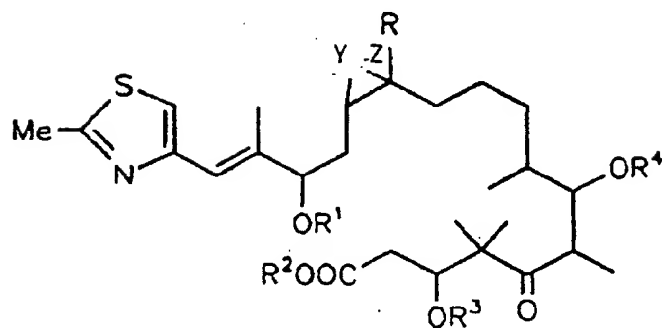
2



4



5



7

[0002] In den vorstehenden Formeln 1 bis Formel 7 bedeuten:

R = H, C₁₋₄-Alkyl;
 R¹, R², R³, R⁴, R⁵ = H, C₁₋₆-Alkyl,
 C₁₋₆-Acyl-Benzoyl,
 C₁₋₄-Trialkylsilyl,
 Benzyl,
 Phenyl,
 C₁₋₆-Alkoxy-,
 C₆-Alkyl-, Hydroxy- und Halogen-substituiertes Benzyl bzw. Phenyl;

wobei auch zwei der Reste R¹ bis R⁵ zu der Gruppierung -(CH₂)_n mit n = 1 bis 6 zusammentreten können und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt;

Y und Z sind entweder gleich oder verschieden und stehen jeweils für Wasserstoff, Halogen, wie F, Cl, Br oder J, Pseudohalogen, wie -NCO, -NCS oder -N₃, OH, O-(C₁₋₆)-Acyl, O-(C₁₋₆)-Alkyl, O-Benzoyl. Y und Z können auch das O-Atom eines Epoxides sein, wobei Epothilon A und B nicht beansprucht werden, oder eine der C-C-Bindungen einer C=C-Doppelbindung bilden.

[0003] In der **Formel 4** bedeutet X Sauerstoff, NOR³, N-NR⁴R⁵, und N-NHCONR⁴R⁵, wobei die Reste R³ bis R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben.

[0004] In der **Formel 5** bedeutet X Wasserstoff, C₁₋₁₈-Alkyl, C₁₋₁₈-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl.

[0005] Für Epothilon A und B sei verwiesen auf DE-A-41 38 042. Verbindungen gemäß der allgemeinen **Formel 1** sind ausgehend von Epothilon A und B sowie von deren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Öffnung des 12,13-Epoxids zugänglich. Werden dazu Hydrogenwasserstoffsäuren in einem bevorzugt nicht wässrigen Lösungsmittel eingesetzt, wobei man die Halogenhydrine X = Hal, Y = OH und Y = OH, Y = Hal erhält. Protonensäuren wie z. B. Toluolsulfonsäure und Trifluoressigsäure führen in Gegenwart von Wasser zu 12,13-Diolen, die anschließend nach Standardverfahren acyliert (z.B. mit Carbonsäureanhydriden und Pyridin oder Triethylamin/DMAP) oder alkyliert (Alkylhalogenide und Silberoxid) werden. Die 3- und 7-Hydroxygruppen können dazu vorübergehend als Formiat (Abspaltung mit NH₃/MeOH) oder p-Methoxybenzylether (Abspaltung mit DDQ) geschützt werden.

[0006] Verbindungen gemäß der allgemeinen **Formel 2** sind aus Epothilon A und B sowie deren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Reduktion, z.B. mit NaBH₄ in Methanol erhältlich. Sind dabei 3-OH und/oder 7-OH reversibel geschützt, so können nach Acylierung oder Alkylierung und Entfernen der Schutzgruppen 5-O-monosubstituierte, 3,5- oder 5,7-O-disubstituierte Derivate der allgemeinen **Formel 2** erhalten werden.

[0007] Verbindungen gemäß der allgemeinen **Formel 4** werden aus Epothilon A und B oder ihren 3-O- und/oder 7-O-geschützten Derivaten durch Ozonolyse und reduktive Aufarbeitung, z.B. mit Dimethylsulfid, erhalten. Die C-16-Ketone können anschließend nach dem Fachmann geläufigen Standardverfahren in Oxime, Hydrazone oder Semicarbazone umgewandelt werden. Sie werden weiterhin durch Wittig-, Wittig-Horner-, Julia- oder Petersen-Olefinierung in C-16/C-17-Olefine überführt.

[0008] Durch Reduktion der C-16-Ketogruppe, z.B. mit einem Aluminium- oder Borhydrid, sind die 16-Hydroxyderivate gemäß der allgemeinen **Formel 5** erhältlich. Diese können, wenn 3-OH und 7-OH mit entsprechenden Schutzgruppen versehen sind, selektiv acyliert oder alkyliert werden. Die Freisetzung der 3-OH- und 7-OH-Gruppen erfolgt z.B. bei O-Formyl durch NH₃/MeOH, bei O-p-Methoxybenzyl durch DDQ.

[0009] Verbindungen der allgemeinen **Formel 7** werden aus Epothilon A und B oder deren 3-OH- und 7-OH-geschützten Derivaten durch basische Hydrolyse erhalten, z.B. mit NaOH in MeOH oder MeOH/Wasser. Vorzugsweise werden Verbindungen der allgemeinen **Formel 7** aus Epothilon A oder B oder deren 3-OH- oder 7-OH-geschützten Derivaten durch enzymatische Hydrolyse erhalten, insbesondere mit Esterasen oder Lipasen. Die Carboxylgruppe kann mit Diazoalkanen nach Schutz der 19-OH-Gruppe durch Alkylierung in Ester umgewandelt werden.

[0010] Ferner können Verbindungen der **Formel 7** durch Lactonisierung nach den Methoden von Yamaguchi (Trichlorbenzoylchlorid/DMAP), Corey (Aldrithiol/Triphenylphosphin) oder Kellogg (omega-Bromsäure/Caesiumcarbonat) in Verbindung der **Formel 1** umgewandelt werden. Einschlägige Arbeitsmethoden finden sich bei

[0011] Inanaga et al. in Bull. Chem. Soc. Japan, 52 (1979) 1989; Corey & Nicolaou in J. Am. Chem. Soc., 96 (1974) 5614; und Kruizinga & Kellogg in J. Am. Chem. Soc., 103 (1981) 5183.

[0012] Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann man auch von Epothilon C oder D ausgehen, wobei zur Derivatisierung auf die vorstehend beschriebenen Derivatisierungsmethoden verwiesen werden kann. Dabei kann man die 12,13-Doppelbindung selektiv hydrieren, beispielsweise katalytisch oder mit Diimin; oder epoxidieren, beispielsweise mit Dimethyldioxiran oder einer Persäure; oder in die Dihalogenide, Dipseudohalogenide oder Diazide umwandeln.

[0013] Die Erfindung betrifft ferner Mittel für den Pflanzenschutz in Landwirtschaft, Forstwirtschaft und/oder Gartenbau, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Epothilonderivate bzw. bestehend aus einem oder mehreren der vorstehend aufgeführten Epothilonderivate neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

[0014] Schließlich betrifft die Erfindung therapeutische Mittel, bestehend aus einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen oder einer oder mehreren der vorstehend aufgeführten Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n). Diese Mittel können insbesondere cytotoxische Aktivitäten zeigen und/oder Immunsuppression bewirken und/oder zur Bekämpfung maligner Tumore eingesetzt werden, wobei sie besonders bevorzugt als Cytostatika verwendbar sind.

[0015] Die Erfindung wird im folgenden durch die Beschreibung von einigen ausgewählten Ausführungsbeispielen näher erläutert und beschrieben.

Beispiele

Beispiel 1:

Verbindung 1a

[0016] 20 mg (0.041 mmol) Epothilon A werden in 1 ml Aceton gelöst, mit 50 µl (0.649 mmol) Trifluoressigsäure versetzt und über Nacht bei 50 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: 4 mg (19 %) Isomer I
4 mg (19 %) Isomer II

Isomer I

[0017]

R_f (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.46

IR (Film): ν_{max} = 3440 (m, b, Sch), 2946 (s, Sch), 1734 (vs), 1686 (m), 1456 (m), 1375 (w), 1256 (s, Sch), 1190 (w, b, Sch), 1071 (m, Sch), 884 (w), 735 (w) cm^{-1} .

MS (20/70 eV): m/e (%) = 493 (43 [M-H₂O]⁺), 394 (47), 306 (32), 206 (30), 181 (40), 166 (72), 139 (100), 113 (19), 71 (19), 57 (24), 43 (24).

Hochauflösung: C₂₆H₃₉O₆NS ber.: 493.2498 für [M-H₂O]⁺
gef.: 493.2478

Isomer II

[0018]

R_f (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.22

IR (Film): ν_{max} = 3484 (s, b, Sch), 2942 (vs, Sch), 1727 (vs), 1570 (w), 1456 (m), 1380 (m), 1265 (s), 1190 (w), 1069 (m), 975 (w), cm^{-1} .

MS (20/70 eV) : m/e (%) = 493 (21 [M-H₂O]⁺), 394 (12), 306 (46), 206 (37), 181 (63), 166 (99), 139 (100), 113 (21), 71 (23), 57 (33), 43 (28).

Hochauflösung: C₂₆H₃₉O₆NS ber.: 493.2498 für [M-H₂O]⁺
gef.: 493.2475

Beispiel 2:**Verbindung 1b**

[0019] 55 mg (0.111 mmol) Epothilon A werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 N Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 90 : 10). Ausbeute: 19 mg (32 %)

R_f (Dichlormethan/Methanol, 90 : 10): 0.46

IR (Film): ν = 3441 (s, br, Sch), 2948 (s, Sch), 1725 (vs, Sch), 1462 (m), 1381 (w), 1265 (m), 1154 (w), 972 (m, br, Sch) cm⁻¹.

UV (Methanol) : λ_{max} (lg epsilon) = 210 (4.29), 248 (4.11) nm.

MS (20/70 eV) : m/e (%) = 529 (13 [M⁺]), 494 (10), 342 (38), 306 (23), 194 (32), 164 (100), 140 (31), 113 (15), 57 (16).

Hochauflösung: C₂₆H₄₀O₆ClNS ber.: 529.2265 für [M⁺],
gef.: 529.2280

Beispiel 3:**Verbindung 1c**

[0020] 25 mg (0.047 mmol) 12-Chlor-13-hydroxy-epothilon A (1b) werden in 1 ml Dichlormethan gelöst, mit 29 mg (0.235 mmol) Dimethylaminopyridin; 151 µl (1.081 mmol) Triethylamin und 20 µl (0.517 mmol) 98 %-iger Ameisensäure versetzt. Das Reaktionsgemisch wird mit Eis/Natriumchlorid abgekühlt. Nach Erreichen von -15 °C werden dem Reaktionsgemisch 40 µl (0.423 mmol) Essigsäureanhydrid zugegeben und 70 Minuten bei -15 °C gerührt. Nachdem ein Dünnschichtchromatogramm keinen vollständigen Umsatz anzeigt, werden dem Reaktionsgemisch weitere 6 mg (0.047 mmol) Dimethylaminopyridin, 7 µl (0.047 mmol) Triethylamin, 2 µl 98 %-ige Ameisensäure (0.047 mmol) und 4 µl (0.047 mmol) Essigsäureanhydrid zugesetzt und 60 Minuten gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch auf Raumtemperatur erwärmt, mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90 : 10). Ausbeute: 5 mg (18 %)

R_f (Dichlormethan/Aceton. 90 : 10): 0.67

IR (Film): ν = 3497 (w, b, Sch), 2940 (s, b, Sch), 1725 (vs), 1468 (m, b, Sch), 1379 (m), 1265 (s), 1253 (s), 1175 (vs), 972 (m, b, Sch), 737 (s) cm⁻¹

MS (20/70 eV) : m/e (%) = 613 (9 [M⁺]), 567 (43), 472 (63), 382 (23), 352 (21), 164 (100), 151 (33), 96 (31), 69 (17), 44 (26).

Hochauflösung : C₂₉H₄₀O₉NSCl ber.: 613.2112 für [M⁺]
gef.: 613.2131

Beispiel 4: .**Verbindung 1d**

[0021] 10 mg (0.020 mmol) Epothilon B werden in 0.5 ml Tetrahydrofuran gelöst, mit 0.5 ml 1 N Salzsäure versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-

EP 1 186 606 B1

Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: 1 mg (9 %)

5 R_f (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.38

MS (20/70 eV) : m/e (%) = 543 (3 [M⁺]), 507 (14), 320 (19), 234 (9), 194 (17), 182 (23), 164 (100), 140 (22), 113 (14) , 71 (13).

10 Hochauflösung: C₂₇H₄₂O₆NSCl ber.: 543.2421 für [M⁺]
gef.: 543.2405

Beispiel 5:

15 **Verbindung 2a**

[0022] 100 mg (0.203 mmol) Epothilon A werden in 4 ml Tetrahydrofuran/1 M Phosphatpuffer pH 7 (1 : 1) gelöst und solange mit Natriumborhydrid (150 mg = 3.965 mmol) versetzt bis das Edukt laut Dünnschichtchromatogramm vollständig abreagiert ist. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 verdünnt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt durch Kieselchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 95 : 5 - grad - nach Dichlormethan/Aceton, 85 : 15).

Ausbeute: (20 %)

25 R_f (Dichlormethan/Aceton, 75 : 25): 0.27

IR (Film): ny = 3413 (s, b, Sch), 2965 (vs, Sch), 1734 (vs), 1458 (m, b, Sch), 1383 (m, Sch), 1264 (s, b, Sch), 1184 (m, b, Sch), 1059 (s, Sch), 966 (s), 885 (w), 737 (m) cm⁻¹

MS (20/70 eV) : m/e (%) = 495 (6 [M⁺]), 477 (8), 452 (12), 394 (9), 364 (16), 306 (49) , 194 (19), 178 (35), 164 (100), 140 (40), 83 (21), 55 (27).

35 Hochauflösung: C₂₆H₄₁O₆NS ber.: 495.2655 für [M⁺]
gef.: 495.2623

Beispiel 6:

40 **Verbindung 3a-d (a-d sind Stereoisomere)**

[0023] 100 mg (0.203 mmol) Epothilon werden in 3 ml Pyridin gelöst, mit 50 µl (0.686 mmol) Thionylchlorid versetzt und 15 Minuten bei Raumtemperatur gerührt. Anschließend wird mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes und Trennung der vier Stereoisomeren 3a-d erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

50 **Verbindung 3a**

[0024]

Ausbeute: 4 mg (12 %)

55 R_f (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.50

IR (Film): ny = 2961 (m, b, Sch), 1742 (vs), 1701 (vs), 1465 (m, Sch), 1389 (m, Sch), 1238 (s, Sch), 1210 (vs, Sch), 1011 (s, Sch), 957 (s, b, Sch),

EP 1 186 606 B1

808 (m, Sch), 768 (s, Sch) cm^{-1}

UV (Methanol) : λ_{max} (lg epsilon) = 210 (4.50), 248 (4.35) nm.

5 MS (20/70 eV) : m/e (%) = 539 (40 [M⁺]), 457 (22), 362 (16), 316 (27), 222 (30), 178 (30), 164 (100), 151 (43), 96 (38), 69 (29), 55 (28), 43 (20).

Hochauflösung: $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{NS}_2$ ber.: 539.2011 für [M⁺]

10 **Verbindung 3b**

[0025]

Ausbeute: 14 mg (13 %)

15 R_f (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.44

IR (Film): ν = 2963 (s, br, Sch), 1740 (vs), 1703 (s), 1510 (w), 1464 (m, br, Sch), 1389 (m, Sch), 1240 (s, br, Sch), 1142 (m), 1076 (w), 1037 (w), 1003 (m), 945 (s, br, Sch), 806 (m, Sch), 775 (s), 737 (m) cm^{-1} .

UV (Methanol) : λ_{max} (lg epsilon) = 211 (4.16), 250 (4.08) nm.

25 MS (20/70 eV) : m/e (%) = 539 (27 [M⁺]), 475 (17), 322 (41), 306 (67), 222 (16), 206 (17), 194 (19), 178 (32), 164 (100), 151 (33), 125 (18), 113 (15), 96 (39), 81 (23), 64 (58), 57 (42), 41 (19).

Hochauflösung: $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{NS}_2$ ber.: 539.2011 für [M⁺]
gef.: 539.1998

30

Verbindung 3c

[0026]

35 Ausbeute: 4 mg (4 %)

R_f (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.38

40 MS (20/70 eV) : m/e (%) = 539 (51 [M⁺]), 322 (22), 306 (53), 222 (36), 178 (31), 164 (100), 151 (41), 96 (25), 81 (20), 69 (26), 55 (25), 41 (25).

Hochauflösung: $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{NS}_2$ ber.: 539.2011 für [M⁺]
gef.: 539.2001

45 **Verbindung 3d**

[0027]

Ausbeute: 1 mg (1 %)

50 R_f (Toluol/Methanol, 90 : 10): 0.33

MS (20/70 eV) : m/e (%) = 539 (69 [M⁺]), 322 (35), 306 (51), 222 (41), 178 (31), 164 (100), 151 (46), 96 (31), 81 (26), 69 (34), 55 (33), 41 (35)

55

Hochauflösung: $\text{C}_{26}\text{H}_{37}\text{O}_7\text{NS}_2$ ber.: 539.2011 für [M⁺]
gef.: 539.1997

Beispiel 7:**Verbindung 4a**

- 5 **[0028]** 10 mg (0.020 mmol) Epothilon A werden in 2 ml Dichlormethan gelöst, auf -70 °C abgekühlt und anschließend 5 Minuten mit Ozon bis zur schwachen Blaufärbung behandelt. Das resultierende Reaktionsgemisch wird anschließend mit 0.5 ml Dimethylsulfid versetzt und auf Raumtemperatur erwärmt. Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch vom Lösungsmittel befreit und schließlich durch präparative Schichtchromatographie (Laufmittel Dichlormethan/Aceton/Methanol, 85 : 10 : 5) gereinigt.

10

Ausbeute: 5 mg (64 %)

R_f (Dichlormethan/Aceton/Methanol, 85 : 10 : 5): 0.61

- 15 IR (Film): ν_{max} = 3468 (s, br, Sch), 2947 (s, br, Sch), 1734 (vs, Sch), 1458 (w), 1380 (w), 1267 (w), 1157 (w), 1080 (w), 982 (w) cm⁻¹.

UV (Methanol): λ_{max} (lg epsilon) = 202 (3.53) nm.

- 20 MS (20/70 eV): m/e (%) = 398 (2 [M⁺]), 380 (4), 267 (14), 249 (17), 211 (20), 193 (26), 171 (34), 139 (34), 111 (40), 96 (100), 71 (48), 43 (50).

- 25 Hochauflösung: C₂₁H₃₄O₇ ber.: 398.2305 für [M⁺]
gef.: 398.2295

Beispiel 8:**Verbindung 6a**

30

- [0029]** 10 mg (0.018 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A werden in 1 ml Dichlormethan gelöst, mit 27 µl (0.180 mmol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 60 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

35

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Nach Beseitigung des Lösungsmittel wird das resultierende Rohprodukt in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 µl einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt.

- 40 Ausbeute: 4 mg (22 %)

R_f (Dichlormethan/Aceton, 85 : 15): 0.46

- 45 IR (Film): ν_{max} = 3445 (w, br, Sch), 2950 (vs, br, Sch), 1717 (vs, Sch), 1644 (w), 1466 (m, Sch), 1370 (m, Sch), 1267 (s, br, Sch), 1179 (s, Sch), 984 (s, Sch), 860 (w), 733 (m) cm⁻¹

UV (Methanol): λ_{max} (lg epsilon) = 210 (4.16) nm.

- 50 MS (20/70 eV): m/e (%) = 475 (28 [M⁺]), 380 (21), 322 (37), 318 (40), 304 (66), 178 (31), 166 (100), 151 (29), 140 (19), 96 (38), 81 (20), 57 (26).

Hochauflösung: C₂₆H₃₇O₅NS ber.: 475.2392 für [M⁺]
gef. 475.2384

55

Beispiel 9:**Verbindung 6b**

- 5 **[0030]** 50 mg (0.091 mmol) 3,7-Di-O-formyl-epothilon A (werden in 1 ml Dichlorethan gelöst, mit 2 ml (0.013 mol) 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU) versetzt und 12 Stunden bei 90 °C gerührt.
Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Natriumdihydrogenphosphat-Puffer pH 4.5 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit.
- 10 **[0031]** Die Reinigung des aus zwei Verbindungen bestehenden Rohproduktes erfolgt mittels präparativer Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Aceton, 90 : 10).

Ausbeute: 7 mg (15 %)

15 Substanzcode

R_f (Dichlormethan/Aceton, 90 : 10): 0.62

IR (Film) :

ny = 2951 (m, br, Sch), 1723 (vs) , 1644 (w, br, Sch), 1468 (w), 1377 (w), 1271 (m, br, Sch), 1179 (s), 987 (m, br, Sch), 735 (w, br, Sch) cm⁻¹.

20

UV (Methanol) :

lambda_{max} (lg epsilon) = 210 (4.44) nm.

MS (20/70 eV) :

m/e (%) = 503 (68 [M⁺]), 408 (58), 390 (32), 334 (25), 316 (34), 220 (21), 206 (27), 194 (20), 181 (33), 164 (100), 151 (34), 139 (28), 113 (20), 96 (82), 81 (33), 67 (24), 55 (26), 43 (22).

25

Hochauflösung:

C₂₇H₃₇O₆NS ber.: 503.2342 für [M⁺]
gef.: 503.2303

30

Beispiel 10:**Verbindung 6c**

- 35 **[0032]** 5 mg (0.009 mmol) 3,7-Di-O-acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 150 µl einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und über Nacht bei 50 °C gerührt.
Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

40 Ausbeute:

3 mg (67 %)

R_f (Dichlormethan/Aceton, 90 : 10):

0.55

IR (Film):

ny = 2934 (s, b, Sch), 1719 (vs, b, Sch), 1641 (m), 1460 (m, Sch), 1372 (s, Sch), 1237 (vs, b, Sch), 1179 (s, Sch), 1020 (s), 963 (s, Sch), 737 (vs) cm⁻¹.

45

UV (Methanol) :

lambda_{max} (lg epsilon) = 210 (4.33) nm.

MS (20/70 eV) :

m/e (%) = 517 (57 [M⁺]), 422 (58), 318 (31), 194 (20), 181 (34), 166 (100), 151 (31), 96 (96), 81 (32), 69 (27), 55 (29), 43 (69).

50

Hochauflösung:

C₂₈H₃₉O₆NS ber.: 517.2498 für [M⁺]
gef.: 517.2492

55

Beispiel 11:**Verbindung 7a**

5 **[0033]** 20 mg (0.041 mmol) Epothilon werden in 0.5 ml Methanol gelöst, mit 0.5 ml 1 N Natronlauge versetzt und 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt.

Zur Aufarbeitung wird das Reaktionsgemisch mit 1 M Phosphatpuffer pH 7 versetzt und die wäßrige Phase viermal mit Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und vom Lösungsmittel befreit. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe
10 der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Dichlormethan/Methanol, 85 : 15).

Ausbeute: 11 mg (52 %)
R_f (Dichlormethan/Methanol, 85 : 15): 0.92
IR (Film): ny = 3438 (s, br, Sch), 2971 (vs, br, Sch), 1703 (vs), 1507 (m), 1460 (s, Sch), 1383 (m, Sch), 1254 (w), 1190 (w, br, Sch), 1011 (w, br, Sch), 866 (w, br), 729 (s) cm⁻¹

MS (20/70 eV): m/e (%) = 423 (0.1 [M⁺]), 323 (4), 168 (89), 140 (100), 85 (31), 57 (67).

20 Hochauflösung: C₂₃H₃₇O₄NS ber.: 423.2443 für [M⁺]
 gef.: 423.2410

Beispiel 12:**Verbindung 7b**

25 **[0034]** 5 mg (0.009 mmol) 7-O-Acetyl-epothilon werden in 1 ml Methanol gelöst, mit 200 µl einer ammoniakalischen Methanollösung (2 mmol NH₃/ml Methanol) versetzt und zwei Tage bei 50 °C gerührt. Zur Aufarbeitung wird das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgt mit Hilfe der präparativen Schichtchromatographie (Laufmittel: Toluol/Methanol, 90 : 10).

Ausbeute: 3 mg (59 %)
R_f (Dichlormethan/Methanol, 90 : 10): 0.63
IR (Film): ny = 3441 (m, b, Sch), 2946 (s, Sch), 1732 (vs), 1600 (w), 1451 (m), 1375 (m), 1246 (s, b, Sch), 1013 (m, b, Sch) cm⁻¹

UV (Methanol): lambda_{max} (lg epsilon) = 211 (3.75), 247 (3.59) nm.

40 MS (20/70 eV): m/e (%) = 567 (1 [M⁺]), 465 (4), 422 (7), 388 (5), 194 (5), 182 (7), 168 (65), 164 (17), 140 (100), 97 (10), 71 (22), 43 (27).

45 Hochauflösung: C₂₉H₄₅O₈NS ber.: 567.2866 für [M⁺]
 gef.: 567.2849

Beispiel 13:

50 **[0035]** 50 mg Epothilon A werden in 20 µl Dimethylsulfoxid angelöst und mit 30 ml Phosphatpuffer (pH 7,1, 30 mM) verdünnt. Nach Zugabe von 5 mg Schweineleberesterase (Fa. Boehringer Mannheim) wird 2 Tage bei 30 °C gerührt. Man säuert mit 2 N HCl auf pH 5 an und extrahiert die Epothilonsäure 7 mit Ethylacetat. Die organische Phase wird mit Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum zur Trockne eingedampft. Ausbeute 48 mg (96 %).

Beispiel 14:

55 **[0036]** 48 mg Epothilonsäure 7 werden in 6 ml THF abs. gelöst und unter Rühren mit 40 µl Triethylamin und 16 µl 2,4,6-Trichlorbenzoylchlorid versetzt. Nach 15 min wird vom Niederschlag abfiltriert und innerhalb von 15 min unter schnellem Rühren in eine siedende Lösung von 20 mg 4-Dimethylaminopyridin in 200 ml Toluol abs. getropft. Nach

weiteren 10 min wird im Vakuum eingedampft und der Rückstand zwischen Ethylacetat/Citratpuffer (pH 4) verteilt. Der Eindampfrückstand der organischen Phase ergibt nach präparativer HPLC Trennung 15 mg Epothilon A.

Beispiel 15:

Epothilone C und D als Ausgangsverbindungen

A. Produktionsstamm und Kulturbedingungen entsprechend dem Epothilon Basispatent.

B. Produktion mit DSM 6773

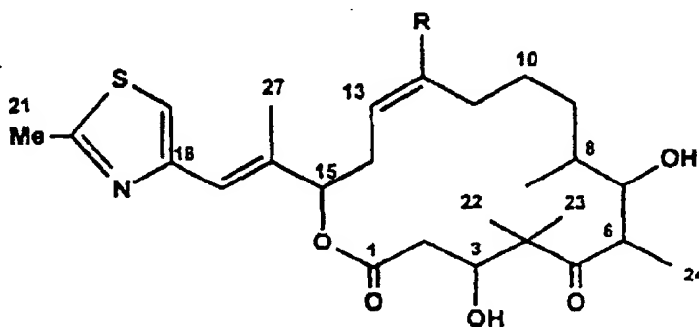
[0037] 75 l Kultur werden wie im Basispatent beschrieben angezogen und zum Animpfen eines Produktionsfermenters mit 700 l Produktionsmedium aus 0.8 % Stärke, 0.2 % Glukose, 0.2 % Soymehl, 0.2 % Hefeextrakt, 0.1 % $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, 0.1 % $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 8 mg/l Fe-EDTA, pH = 7.4 und optional 15 l Adsorberharz Amberlite XAD-16 verwendet. Die Fermentation dauert 7 - 10 Tage bei 30 °C, Belüftung mit 2 m³ Luft/h. Durch Regulierung der Drehzahl wird der pO₂ bei 30 % gehalten.

C. Isolierung

[0038] Das Adsorberharz wird mit einem 0.7 m², 100 mesh Prozeßfilter von der Kultur abgetrennt und durch Waschen mit 3 Bettvolumen Wasser/Methanol 2:1 von polaren Begleitstoffen befreit. Durch Elution mit 4 Bettvolumen Methanol wird ein Rohextrakt gewonnen, der i. Vak. bis zum Auftreten der Wasserphase eingedampft wird. Diese wird dreimal mit dem gleichen Volumen Ethylacetat extrahiert. Eindampfen der organischen Phase ergibt 240 g Rohextrakt, der zwischen Methanol und Heptan verteilt wird, um lipophile Begleitstoffe abzutrennen. Aus der Methanolphase werden durch Eindampfen i. Vak. 180 g Raffinat gewonnen, das in drei Portionen über Sephadex LH-20 (Säule 20 x 100 cm, 20 ml/min Methanol) fraktioniert wird. Die Epothilone sind in der mit 240 - 300 min Retentionszeit eluierten Fraktion von insgesamt 72 g enthalten. Zur Trennung der Epothilone wird in drei Portionen an Lichrosorb RP-18 (15 µm, Säule 10 x 40 cm, Laufmittel 180 ml/min Methanol/Wasser 65:35) chromatographiert. Nach Epothilon A und B werden mit R_t = 90-95 min Epothilon C und 100-110 min Epothilon D eluiert und nach Eindampfen i. Vak. in einer Ausbeute von jeweils 0.3 g als farblose Öle gewonnen.

D. Physikalische Eigenschaften

[0039]



Epothilon C R = H
Epothilon D R = CH₃

Epothilon C

[0040] C₂₆H₃₉NO₅S [477]
ESI-MS: (positiv Ionen): 478.5 für [M+H]⁺
1H und 13C siehe NMR-Tabelle

EP 1 186 606 B1

DC:R_f = 0,82

DC-Alufolie 60 F 254 Merck, Laufmittel: Dichlormethan/Methanol = 9:1

Detektion: UV-Löschung bei 254 nm. Ansprühen mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagenz, blau-graue Anfärbung beim Erhitzen auf 120 °C.

HPLC:R_t = 11,5 min

Säule: Nucleosil 100 C-18 7µm, 125 x 4 mm

Laufmittel: Methanol/Wasser = 65:35

Fluß: 1ml/min

Detection: Diodenarray

Epothilon D

[0041] C₂₇H₄₁NO₅S [491]

ESI-MS: (positiv Ionen): 492,5 für [M+H]⁺

¹H und ¹³C siehe NMR-Tabelle

DC:R_f = 0,82

DC-Alufolie 60 F 254 Merck, Laufmittel: Dichlormethan/Methanol = 9:1

Detektion: UV-Löschung bei 254 nm. Ansprühen mit Vanillin-Schwefelsäure-Reagenz, blau-graue Anfärbung beim Erhitzen auf 120 °C.

HPLC:R_t = 15,3 min

Säule: Nucleosil 100 C-18 7µm, 125 x 4 mm

Laufmittel: Methanol/Wasser = 65:35

Fluß: 1ml/min

Detection: Diodenarray

Tabelle:

¹ H- und ¹³ C-NMR Daten von Epothilon C und Epothilon D in [D ₆]DMSO bei 300 MHz						
Epothilon C				Epothilon D		
H-Atom	δ (ppm)	C-Atom	δ (ppm)	δ (ppm)	C-Atom	δ (ppm)
		1	170.3		1	170.1
2-Ha	2.38	2	38.4	2.35	2	39.0
2-Hb	2.50	3	71.2	2.38	3	70.8
3-H	3.97	4	53.1	4.10	4	53.2
3-OH	5.12	5	217.1	5.08	5	217.4
6-H	3.07	6	45.4	3.11	6	44.4
7-H	3.49	7	75.9	3.48	7	75.5
7-OH	4.46	8	35.4	4.46	8	36.3
8-H	1.34	9	27.6	1.29	9	29.9
9-Ha	1.15	10	30.0	1.14	10	25.9
9-Hb	1.40	11	27.6	1.38	11	31.8*
10-Ha	1.15*	12	124.6	1.14*	12	138.3
10-Hb	1.35*	13	133.1	1.35*	13	120.3
11-Ha	1.90	14	31.1	1.75	14	31.6*
11-Hb	2.18	15	76.3	2.10	15	76.6
12-H	5.38**	16	137.3		16	137.2
13-H	5.44**	17	119.1	5.08	17	119.2
14-Ha	2.35	18	152.1	2.30	18	152.1

*, ** Zuordnung vertauschbar

EP 1 186 606 B1

Tabelle: (fortgesetzt)

¹ H- und ¹³ C-NMR Daten von Epothilon C und Epothilon D in [D ₆]DMSO bei 300 MHz						
Epothilon C				Epothilon D		
H-Atom	δ (ppm)	C-Atom	δ (ppm)	δ (ppm)	C-Atom	δ (ppm)
14-Hb	2.70	19	117.7	2.65	19	117.7
15-H	5.27	20	164.2	5.29	20	164.3
17-H	6.50	21	18.8	6.51	21	18.9
19-H	7.35	22	20.8	7.35	22	19.7
21-H ₃	2.65	23	22.6	2.65	23	22.5
22-H ₃	0.94	24	16.7	0.90	24	16.4
23-H ₃	1.21	25	18.4	1.19	25	18.4
24-H ₃	1.06	27	14.2	1.07	26	22.9
25-H ₃	0.90			0.91	27	14.1
26-H ₃				1.63		
27-H ₃	2.10			2.11		

Beispiel 15:

Epothilon A und 12,13-Bisepi-epothilon A aus Epothilon C

[0042] 50 mg Epothilon A werden in 1.5 ml Aceton gelöst und mit 1.5 ml einer 0.07 molaren Lösung von Dimethyldioxiran in Aceton versetzt. Nach 6 Stunden Stehen bei Raumtemperatur wird i. Vak. eingedampft und durch präparative HPLC an Kieselgel (Laufmittel: Methyl-tert.butylether/Petrolether/Methanol 33:66:1) getrennt.

[0043] Ausbeute:

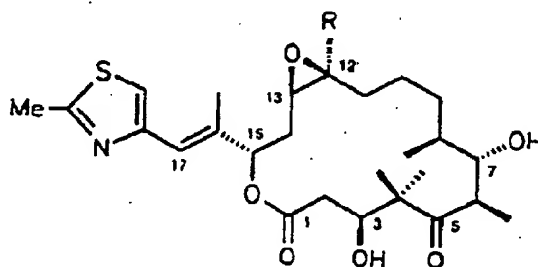
25 mg Epothilon A, $R_t = 3,5$ min (analyt. HPLC, 7 μ m, Säule 4 x 250 mm, Laufmittel s. o., Fluß 1.5 ml/min) und

20 mg 12,13-Bisepi-epothilon A, $R_t = 3.7$ min, ESI-MS (pos. Ionen)

$m/z = 494$ $[M+H]^+$

¹H-NMR in [D₄] Methanol, ausgewählte Signale: $\delta = 4.32$

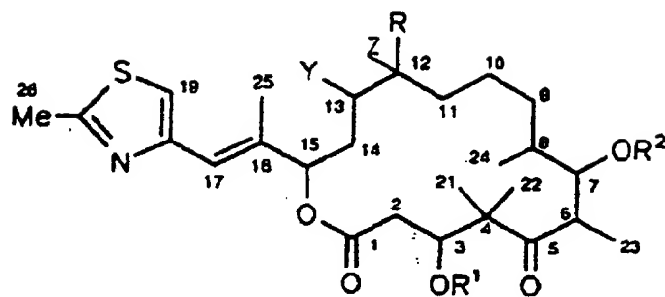
(3-H), 3.79 (7-H), 3.06 (12-H), 3.16 (13-H), 5.54 (15-H), 6.69 (17-H), 1.20 (22-H), 1.45 (23-H).



12,13-Bisepi-epothilon A $R = H$

Patentansprüche

1. Epothilonderivat der Formel 1



1

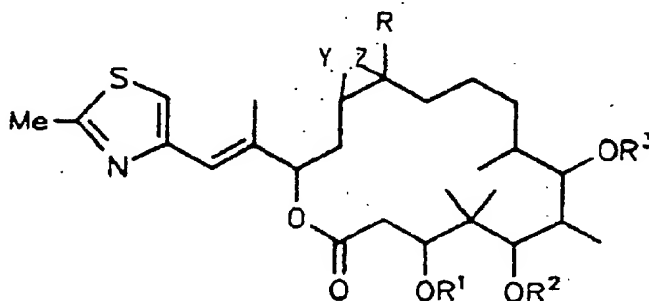
wobei

R = H oder C₁₋₄-Alkyl;

R¹, R² = H, C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Acyl, Benzoyl, C₁₋₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl; C₁₋₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; und es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt, und

Y und Z eine der C-C-Bindungen einer C=C-Doppelbindung bilden.

2. Epothilonderivat der Formel 2



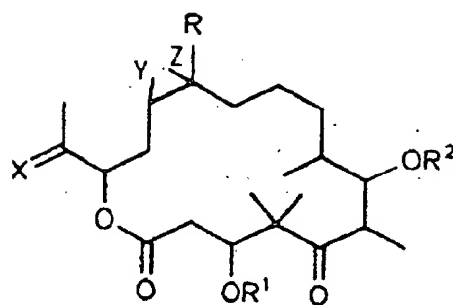
2

wobei

R = H, C₁₋₄-Alkyl;

R¹, R², R³ = H, C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Acyl, Benzoyl, C₁₋₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl; C₁₋₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt; und Y und Z die Bedeutung gemäß Anspruch 1 besitzen.

3. Epothilonderivat der Formel 4



wobei

R = H, C₁₋₄-Alkyl;

R¹, R², R³, R⁴, R⁵ = H, C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Acyl, Benzoyl, C₁₋₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl; C₁₋₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt,

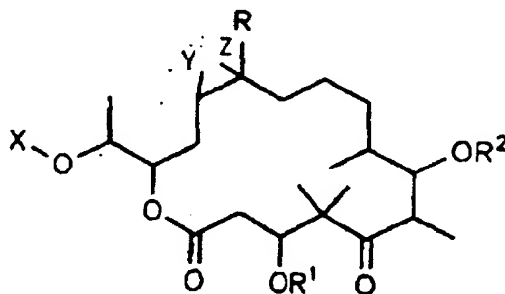
X Sauerstoff, NOR³, N-NR⁴R⁵ und N-NHCONR⁴R⁵ bedeutet, wobei die Reste

R³ bis R⁵ die oben angegebene Bedeutung haben und

R⁴ und R⁵ auch zusammen eine Alkylengruppe mit 2 bis 6 Kohlenstoffatomen bilden können; und

Y und Z die Bedeutungen gemäß Anspruch 1 besitzen.

4. Epothilonderivat der Formel 5



wobei

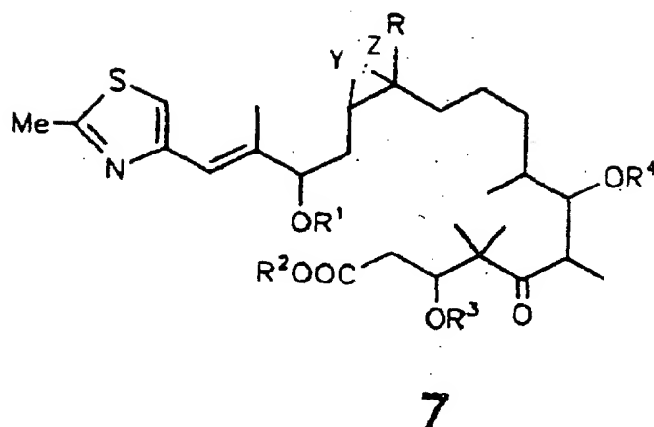
R = H, C₁₋₄-Alkyl;

R¹, R² = H, C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Acyl, Benzoyl, C₁₋₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl; C₁₋₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um gradkettige oder verzweigte Reste handelt, und

X Wasserstoff, C₁₋₁₈-Alkyl, C₁₋₁₈-Acyl, Benzyl, Benzoyl und Cinnamoyl bedeutet und

Y und Z die Bedeutungen gemäß Anspruch 1 besitzen.

5. Epothilonderivat der Formel 7



wobei

R = H, C₁₋₄-Alkyl;

R¹, R², R³, R⁴ = H, C₁₋₆-Alkyl, C₁₋₆-Acyl, Benzoyl, C₁₋₄-Trialkylsilyl, Benzyl, Phenyl; C₁₋₆-Alkoxy-, C₆-Alkyl-, Hydroxy- und halogensubstituiertes Benzyl bzw. Phenyl; es sich bei den in den Resten enthaltenen Alkyl- bzw. Acylgruppen um geradkettige oder verzweigte Reste handelt; und

Y und Z entweder gleich oder verschieden sind und jeweils für Wasserstoff, Halogen, Pseudohalogen, OH, O-C₁₋₆-Alkyl, O-C₁₋₆-Acyl oder O-Benzoyl stehen.

6. Verfahren zur Herstellung eines Epothilonderivats der Formel 7 gemäß Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, daß** man Epothilon A und/oder Epothilon B oder ein 3-OH-geschütztes Derivat derselben und/oder ein 7-OH-geschütztes Derivat derselben

(a) enzymatisch hydrolysiert, insbesondere mit einer Esterase oder Lipase, oder

(b) in alkalischem Medium hydrolysiert, insbesondere mit Natriumhydroxid in einem Methanol/Wasser-Gemisch, und das Epothilonderivat der Formel 7 gewinnt und isoliert.

7. Verfahren zur Herstellung eines Epothilonderivats der Formel 1 gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** man ein Epothilonderivat der Formel 7 gemäß Anspruch 5 oder als Produkt des Verfahrens gemäß Anspruch 6

(a) nach der Yamaguchi-Methode oder

(b) nach der Corey-Methode oder

(c) nach der Kellogg-Methode

lactonisiert und in das Epothilonderivat der Formel 1 umwandelt und dieses Umwandlungsprodukt isoliert.

8. Verfahren zur Herstellung von Epothilon A und/oder 12,13-Bisepi-epothilon A, **dadurch gekennzeichnet, daß** man Epothilon C epoxidiert, insbesondere mit Dimethyldioxiran oder einer Persäure.

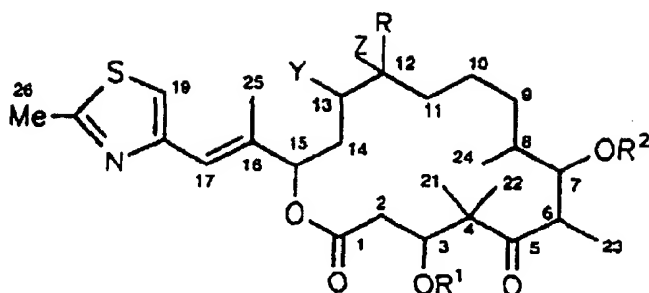
9. Verfahren zur Herstellung von Epothilon B und/oder 12,13-Bisepi-epothilon B, **dadurch gekennzeichnet, daß** man Epothilon D epoxidiert, insbesondere mit Dimethyldioxiran oder einer Persäure.

10. Mittel für den Pflanzenschutz in der Landwirtschaft und Forstwirtschaft und/oder im Gartenbau, bestehend aus einer oder mehreren der Verbindungen gemäß einem der vorangehenden Ansprüche oder einer oder mehreren dieser Verbindungen neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

11. Therapeutisches Mittel, insbesondere zum Einsatz als Cytostatikum, bestehend aus einer oder mehreren der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5 oder einer oder mehreren der Verbindungen nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5 neben einem oder mehreren üblichen Träger(n) und/oder Verdünnungsmittel(n).

Claims

1. Epothilone derivative of formula 1



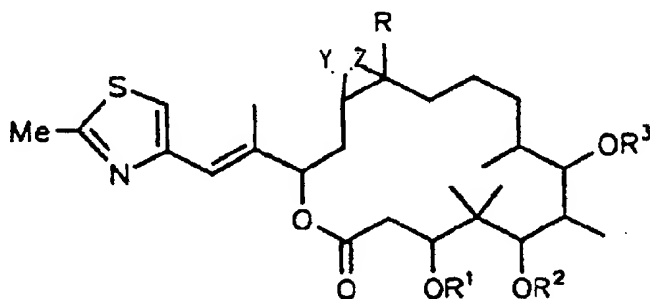
1

wherein

R = H or C₁₋₄alkyl;R¹ and R² = H, C₁₋₆alkyl, C₁₋₆acyl, benzoyl, C₁₋₄trialkylsilyl, benzyl, phenyl, or benzyl or phenyl each substituted by C₁₋₆alkoxy, C₆alkyl, hydroxy or by halogen; and the alkyl and acyl groups contained in the radicals are straight-chain or branched radicals; and

Y and Z together form a C-C bond of a C=C double bond.

2. Epothilone derivative of formula 2



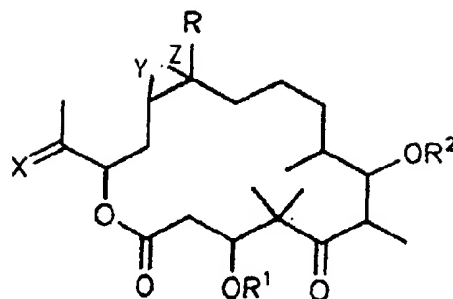
2

wherein

R = H or C₁₋₄alkyl;R¹, R² and R³ = H, C₁₋₆alkyl, C₁₋₆acyl, benzoyl, C₁₋₄trialkylsilyl, benzyl, phenyl, or benzyl or phenyl each substituted by C₁₋₆alkoxy, C₆alkyl, hydroxy or by halogen; and the alkyl and acyl groups contained in the radicals are straight-chain or branched radicals; and

Y and Z have the meanings according to claim 1.

3. Epothilone derivative of formula 4



4

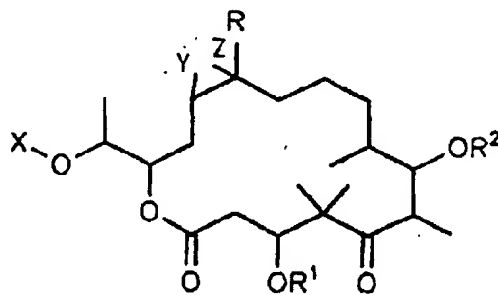
R = H or C₁₋₄alkyl;

R¹, R², R³, R⁴ and R⁵ = H, C₁₋₆alkyl, C₁₋₆acyl, benzoyl, C₁₋₄trialkylsilyl, benzyl, phenyl, or benzyl or phenyl each substituted by C₁₋₆alkoxy, C₆alkyl, hydroxy or by halogen;

and the alkyl and acyl groups contained in the radicals are straight-chain or branched radicals; X represents oxygen, NOR³, N-NR⁴R⁵ or N-NHCONR⁴R⁵, wherein the radicals R³ to R⁵ are as defined above and R⁴ and R⁵ may also together form an alkylene group having from 2 to 6 carbon atoms; and

Y and Z have the meanings according to claim 1.

4. Epothilone derivative of formula 5



5

wherein

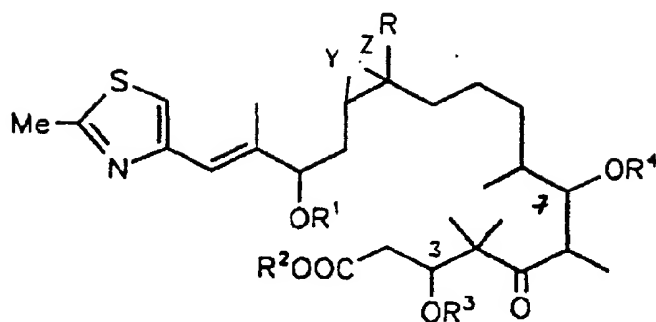
R = H or C₁₋₄alkyl;

R¹ and R² = H, C₁₋₆alkyl, C₁₋₆acyl, benzoyl, C₁₋₄trialkylsilyl, benzyl, phenyl, or benzyl or phenyl each substituted by C₁₋₆alkoxy, C₆alkyl, hydroxy or by halogen; and the alkyl and acyl groups contained in the radicals are straight-chain or branched radicals; and

X represents hydrogen, C₁₋₁₈alkyl, C₁₋₁₈acyl, benzyl, benzoyl or cinnamoyl; and

Y and Z have the meanings according to claim 1.

5. Epothilone derivative of formula 7



7

wherein

R = H or C₁₋₄alkyl;

R¹, R², R³ and R⁴ = H, C₁₋₆alkyl, C₁₋₆acyl, benzoyl, C₁₋₄trialkylsilyl, benzyl, phenyl, or benzyl or phenyl each substituted by C₁₋₆alkoxy, C₆alkyl, hydroxy or by halogen; and the alkyl and acyl groups contained in the radicals are straight-chain or branched radicals; and

Y and Z are either identical or different and each represents hydrogen, halogen, pseudohalogen, OH, O-(C₁₋₆)alkyl, O-(C₁₋₆)acyl or O-benzoyl.

6. Process for the preparation of an epothilone derivative of formula 7 according to claim 5, **characterized in that** epothilone A and/or epothilone B or 3-OH protected derivative thereof and/or a 7-OH protected derivative thereof is

(a) enzymatically hydrolysed, especially with an esterase or lipase, or

(b) hydrolysed in an alkaline medium, especially with sodium hydroxide in a methanol/water mixture,

and the epothilone derivative of formula 7 is obtained and isolated.

7. Process for the preparation of an epothilone derivative of the following formula 1 according to claim 1, **characterized in that** an epothilone derivative of formula 7 according to claim 5 or in the form of the product of the process according to claim 6 is lactanized and converted

(a) according to the Yamaguchi method, or

(b) according to the Corey method, or

(c) according to the Kellogg method

to form the epothilone derivative of formula 1 and that the conversion product is isolated.

8. Process for the preparation of epothilone A and/or 12,13-bisepi-epothilone A, wherein epothilone C is epoxidised, especially with dimethyldioxirane or with a peracid.

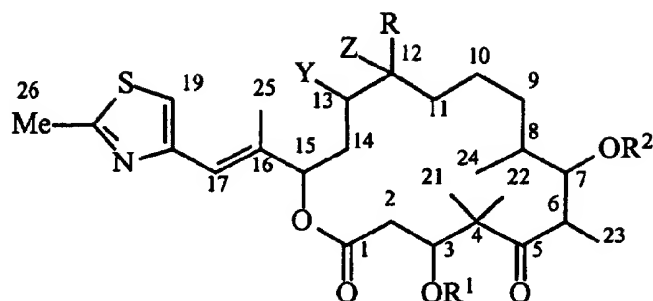
9. Process for the preparation of epothilone B and/or 12,13-bisepi-epothilone B, wherein epothilone D is epoxidised, especially with dimethyldioxirane or with a peracid.

10. Composition for plant protection in agriculture and forestry and/or in horticulture, consisting of one or more of the compounds according to any of the preceding claims or consisting of one or more of these compounds together with one or more common carrier(s) and/or diluents(s).

11. Therapeutic composition, especially for use as a cytostatic agent, consisting of one or more of the compounds according to one or more of claims 1 to 5 or consisting of one or more of the compounds according to one or more of claims 1 to 5 together with one or more common carrier(s) and/or diluent(s).

Revendications

1. Dérivé d'épothilone, de formule 1 :



1

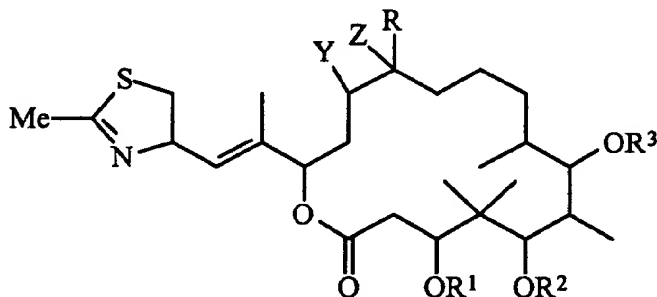
dans laquelle

R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁₋₄ ;

R¹ et R² représentent chacun un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁₋₆, acyle en C₁₋₆, benzoyle, tri(alkyle en C₁₋₄)silyle, benzyle ou phényle, ou encore un groupe benzyle ou phényle portant un ou des substituants alcoxy en C₁₋₆, alkyle en C₆, hydroxy ou halogéno, les fragments alkyle ou acyle figurant dans ces groupes étant linéaires ou ramifiés ;

et Y et Z constituent l'une des liaisons C-C d'une double liaison C=C.

2. Dérivé d'épothilone, de formule 2 :



2

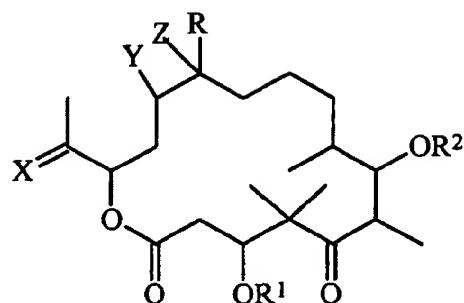
dans laquelle

R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁₋₄ ;

R¹, R² et R³ représentent chacun un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁₋₆, acyle en C₁₋₆, benzoyle, tri(alkyle en C₁₋₄)silyle, benzyle ou phényle, ou encore un groupe benzyle ou phényle portant un ou des substituants alcoxy en C₁₋₆, alkyle en C₆, hydroxy ou halogéno, les fragments alkyle ou acyle figurant dans ces groupes étant linéaires ou ramifiés ;

et Y et Z ont la signification indiquée dans la revendication 1.

3. Dérivé d'épothilone, de formule 4 :



4

dans laquelle

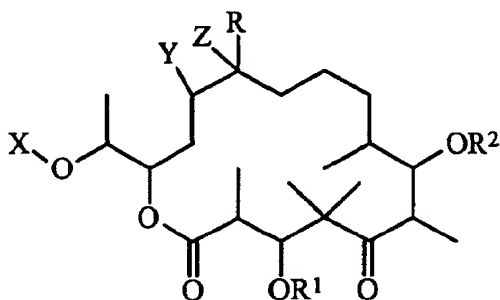
R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁₋₄ ;

R¹, R², R³, R⁴ et R⁵ représentent chacun un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁₋₆, acyle en C₁₋₆, benzoyle, tri(alkyle en C₁₋₄)silyle, benzyle ou phényle, ou encore un groupe benzyle ou phényle portant un ou des substituants alcoxy en C₁₋₆, alkyle en C₆, hydroxy ou halogéno, les fragments alkyle ou acyle figurant dans ces groupes étant linéaires ou ramifiés ;

X représente un atome d'oxygène ou un groupe NOR³, N-NR⁴R⁵ ou N-NHCONR⁴R⁵, où les symboles R³ à R⁵ ont les significations indiquées ci-dessus, et R⁴ et R⁵ peuvent aussi constituer ensemble un groupe alkylène comportant de 2 à 6 atomes de carbone ;

et Y et Z ont la signification indiquée dans la revendication 1.

4. Dérivé d'épothilone, de formule 5 :



5

dans laquelle

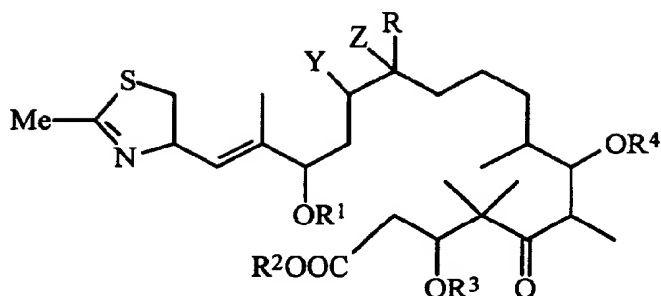
R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁₋₄ ;

R¹ et R² représentent chacun un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁₋₆, acyle en C₁₋₆, benzoyle, tri(alkyle en C₁₋₄)silyle, benzyle ou phényle, ou encore un groupe benzyle ou phényle portant un ou des substituants alcoxy en C₁₋₆, alkyle en C₆, hydroxy ou halogéno, les fragments alkyle ou acyle figurant dans ces groupes étant linéaires ou ramifiés ;

X représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁₋₁₈, acyle en C₁₋₁₈, benzyle, benzoyle ou cinnamoyle ;

et Y et Z ont la signification indiquée dans la revendication 1.

5. Dérivé d'épothilone, de formule 7 :



7

dans laquelle

R représente un atome d'hydrogène ou un groupe alkyle en C₁₋₄ ;

R¹, R², R³ et R⁴ représentent chacun un atome d'hydrogène, un groupe alkyle en C₁₋₆, acyle en C₁₋₆, benzoyle, tri(alkyle en C₁₋₄)silyle, benzyle ou phényle, ou encore un groupe benzyle ou phényle portant un ou des substituants alcoxy en C₁₋₆, alkyle en C₆, hydroxy ou halogéno, les fragments alkyle ou acyle figurant dans ces groupes étant linéaires ou ramifiés ;

et Y et Z sont identiques ou différents et représentent chacun un atome d'hydrogène ou d'halogène, un pseudohalogène ou un groupe OH, O-(alkyle en C₁₋₆), O-(acyle en C₁₋₆) ou O-benzoyle.

6. Procédé de préparation d'un dérivé d'épothilone de formule 7, conforme à la revendication 5, **caractérisé en ce que** l'on fait subir à de l'épothilone A et/ou à de l'épothilone B, ou à un dérivé de l'une d'elles dont le groupe 3-hydroxy est protégé et/ou à un dérivé de l'une d'elles dont le groupe 7-hydroxy est protégé,

a) une hydrolyse enzymatique, en particulier à l'aide d'une estérase ou d'une lipase,

b) ou une hydrolyse en milieu alcalin, en particulier avec de l'hydroxyde de sodium dans un mélange de méthanol et d'eau,

grâce à quoi l'on obtient le dérivé d'épothilone de formule 7, et on l'isole.

7. Procédé de préparation d'un dérivé d'épothilone de formule 1, conforme à la revendication 1, **caractérisé en ce qu'on** fait subir à un dérivé d'épothilone de formule 7, conforme à la revendication 5 ou produit selon un procédé conforme à la revendication 6, en opérant

a) selon la méthode de Yamaguchi,

b) selon la méthode de Corey,

c) ou selon la méthode de Kellog,

une lactonisation qui le convertit en un dérivé d'épothilone de formule 1, et l'on isole le produit de cette conversion.

8. Procédé de préparation d'épothilone A et/ou de 12,13-bis-épiépothilone A, **caractérisé en ce qu'on** soumet de l'épothilone C à une époxydation, en particulier à l'aide de diméthylidioxirane ou d'un peracide.

9. Procédé de préparation d'épothilone B et/ou de 12,13-bis-épiépothilone B, **caractérisé en ce qu'on** soumet de l'épothilone D à une époxydation, en particulier à l'aide de diméthylidioxirane ou d'un peracide.

10. Agent destiné à la protection de végétaux en agriculture, sylviculture et/ou horticulture, constitué de l'un ou de plusieurs des composés conformes ou préparés conformément à l'une des revendications précédentes, ou de l'un ou de plusieurs de ces composés en association avec un ou plusieurs véhicules et/ou diluants habituels.

11. Agent thérapeutique, destiné en particulier à être utilisé comme cytostatique, constitué de l'un ou de plusieurs des composés conformes à l'une ou plusieurs des revendications 1 à 5, ou constitué de l'un ou de plusieurs des composés conformes à l'une ou plusieurs des revendications 1 à 5 en association avec un ou plusieurs véhicules et/ou diluants habituels.